AbiZyme

TMB Stabilized Substrate for HRP

⚠ Ознакомьтесь с инструкцией по технике безопасности перед использованием.

Cat. # ZYM-011-3-50ml

Cat. # ZYM-011-3-100ml

Данная субстратная система состоит из 2 реагентов и преимущественно используется в тестах иммуноферментного анализа (ИФА, EIA, ELISA) для определения активности пероксидазы хрена (HRP). Готовый субстрат представляет собой раствор 3,3′,5,5′-тетраметилбензидина в слабокислом буфере. Непрореагировавший субстрат должен быть бесцветным или иметь очень светло-жёлтый цвет. При взаимодействии субстратной системы с пероксидазой хрена образуется растворимый продукт реакции синего цвета с максимумом поглощения при 652 нм.

Данный продукт представлен в виде 2 отдельных реагентов: стоковый раствор 3,3′,5,5′-тетраметилбензидина, ТМБ (**AbiZyme TMB Stabilized Substrate for HRP Reagent#1)**, а также стабилизированный буфер (**AbiZyme TMB Stabilized Substrate for HRP Reagent#2)**. Рабочий субстрат необходимо готовить непосредственно перед проведением эксперимента, поскольку он будет стабилен в течение нескольких часов при комнатной температуре или нескольких дней при хранении при 4 °C. Реактивы Reagent#1 и Reagent#2 по отдельности стабильны более года.

Протокол использования

1. Выполнить все необходимые инкубации с антителами и реагентами, меченными пероксидазой хрена.

2. Промыть планшет не менее 2 раз фосфатно-солевым буфером или трис-буферным раствором, содержащим 0.1% Tween-20.

3. После окончательной промывки встряхнуть планшет и удалить оставшийся буферный раствор из лунок планшета.

4. Перед использованием необходимо смешать 100 мкл ТМБ (AbiZyme TMB Stabilized Substrate for HRP Reagent#1) с 4 мл стабилизированного буфера (AbiZyme TMB Stabilized Substrate for HRP Reagent#2) и нагреть полученный раствор до комнатной температуры (20-25 °C).

5. После чего внести по 100 мкл готового субстрата для пероксидазы в лунки планшета и инкубировать 5–30 минут до образования растворимого синего продукта реакции.

6. Для синего продукта реакции снять спектр поглощения при 650 нм.

<u>Для высокочувствительных реакций</u>:

7. При необходимости остановить протекание реакции одним из стоп-растворов (соляная или серная кислота) до образования желтого цвета раствора.

8. Для жёлтого продукта реакции регистрировать спектр поглощения при 450 нм.

Рисунок 1. Схема проведения реакции с использованием стабилизированного субстрата ТМБ.

Условия хранения: набор необходимо хранить при температуре 2-8 °С в защищённом от света месте. Отдельные компоненты субстратной системы должны оставаться стабильными до 12 месяцев при соблюдении условий хранения.

Паспорт безопасности:

Внимание: компоненты субстратной системы могут причинять вред при впитывании через кожу и при проглатывании. А также вызывать раздражение слизистых оболочек и дыхательных путей, провоцируя аллергические реакции, симптомы астмы или затруднение дыхания. При появлении раздражения или аллергических реакций необходимо срочно обратиться к специалисту.

Меры предосторожности: избегать вдыхания и прямого попадания на слизистые оболочки, использовать перчатки и защитную одежду.

При попадании на кожу: промыть большим количеством воды с мылом в течение 15 минут. Удалить загрязнение с одежды, необходимо постирать одежду перед повторным использованием.

При вдыхании: вывести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему покой в удобном для дыхания положении.

При попадании в глаза: преимущественно держать веки открытыми, осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. При наличии контактных линз – предварительно их снять.

При проглатывании: промыть рот большим количеством воды.

При появлении респираторных и аллергических симптомов, а также если пострадавший находится в бессознательном состоянии: обратиться за медицинской помощью.